SUMMARY

Halicyclops cryptus secundus ssp. n. is described from a brackish well situated some 130 km from the Sea of Azov. The new subspecies differs from nomenotypic form by remarkably short innermost apical furcal seta (ca 10 times as short as outermost seta vs. 3.5-5 times in nomenotype), ratio of apical soines to distal endopode joint P_4 (1.7 vs. 1.45-1.65) and other characters.

Монченко В. И. Новый вид веслоногого рака Halicyclops cryptus из интерстициали Азовского моря.— Биология моря, 1979, № 1, с. 17—23.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена АН УССР,
Сектор географии АН УССР

Поступила в редакцию 3.VI 1982 г.

УДК 596.786:582.588.42

И. М. Нагорная, Н. В. Лаппа, В. П. Анохина

АМИЛОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТКАНЕЙ КАПУСТНОЙ СОВКИ ПРИ МУСКАРДИНОЗЕ

В патогенезе грибных и бактериальных заболеваний важную роль играет функциональное состояние пищеварительной системы, обеспечивающей организм пластическими и энергетическими резервами. Особая роль принадлежит амилазе кишечника, которая гидролизует олиго- и полисахариды корма до легко усвояемых углеводов, необходимых организму, в первую очередь, для энергетических потребностей. Ранее нами было обнаружено значительное угнетение карбогидраз тканей кишечника капустной совки при микозе (Лаппа и др., 1974). Известно, что у чешуекрылых амилаза секретируется клетками кишечного эпителия передней и средней кишки (Ижевский, 1973; Журавская и др., 1970). Иммунохимическими методами показано, что у тутового шелкопряда амилаза особенно интенсивно образуется в переднем отделе средней кишки, причем молекулы фермента секретируются клетками эпителия и поступают на поверхность перитрофической мембраны, после чего амилаза выделяется в пищеварительный сок (Rensuke, 1980). Следует отметить, что в подавляющем большинстве исследований ферментативной активности кишечника насекомых определение производится только в тканях кишки, освобожденной от содержимого. Однако, по данным недавних исследований (Eguchi, Iwamoto, 1976; Terra, Ferreir, Bianchi, 1979), между ферментами пищеварительного сока и стенками кишечника существует функциональная дифференциация: в полости перитрофической мембраны происходит деструкция высокомолекулярных соединений до крупных фрагментов, дальнейший гидролиз которых осуществляется ферментами, связанными с мембранами клеток кишечного эпителия. Ферменты кишечного сока и кишечной ткани различаются по ряду свойств, в том числе и по чувствительности к ингибиторам (Eguchi, Iwamoto, 1976). Кроме того, амилаза кишечной ткани регулирует обмен гликогена в стенке средней кишки в период интенсивного питания. В обмене углеводов участвует и амилаза гемолимфы, о чем свидетельствует высокая ферментативная активность и увеличение числа форм амилазы у личинок тутового шелкопряда V возраста в период интенсивного питания (Филиппович, Минина, 1974).

Принимая во внимание изложенные сведения, мы предприняли исследование амилолитической активности кишечного сока, ткани целого кишечника, а также гемолимфы с целью выяснения степени нарушения активности в процессе возникновения и развития микоза, вызванного грибом *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.

Методика. Гусениц капустной совки конца IV — начала V возрастов инфицировали через корм по следующей схеме: 1) контроль; 2) хлорофос 0,001%; 3) боверин $8 \cdot 10^8$ сп/мл — хлорофос 0,001%; 4) боверин $8 \cdot 10^8$ сп/мл. Гусениц выдерживали без корма в течение 3 часов перед анализом, который проводили в одно и то же время суток. Гемолимфу собирали при уколе в ложноножку. Кишечный сок получали, раздражая стеклянным капилляром ротовые органы гусениц. Кишечники выделяли у гусениц, наркотизированных медицинским эфиром, освобождали от содержимого, промывали в холодном изотоническом растворе, осушали и взвешивали. Среднюю пробу

составляли от 5—7 гусениц, причем все работы проводили с охлаждением на льду. Готовили 6%-ный гомогенат ткани с фосфатным буфером pH 7 (оптимум для амилаз совок) (Журавская и др., 1970). Активность амилазы определяли по методу Смита и Роя (Асатиани, 1957), инкубацию проводили при 35 °С. Активность амилазы выражали в мг гидролизованного крахмала на 1 г ткани или на 1 мл кишечного сока за 1 мин. Определение проводили через 19 и 96 часов после инфицирования гусениц.

Результаты. Представленные в таблице данные показывают, что амилолитическая активность в ткани кишечника и кишечном соке как здоровых, так и мускардинозных

Амилолитическая активность тканей и кишечного сока гусениц капустной совки

Вариант	19 ч.						96 ч.					
	Ткань кишечника		Кишечный сок		Гемолимфа		Ткань кишечника		Кишечный сок		Гемолимфа	
	%	мг/мл	%	мг/мл	%	мг/г	%	мг/мл	%	мг/мл	мг/г	%
Боверин	0,43	100	1,05	100	0,236	100	2,11	100	3,47	100	0,178	100
Хлорофос	0,35	81,3	2,20	209,5	0,218	94,7	2,59	127,4	1,75	49,7	0,112	63,9
Боверин+хлорофос	0,23	53,4	1,32	125,7	0,051	21,5	1,92	90,9	1,86	53,7	0,150	84,2
Контроль	0,21	48,8	0,65	61,9	0	0	1,92	90,9	2,51	72,8	0,174	92,1

гусениц увеличилась к средине возраста. Аналогичное возрастание активности амилазы показано у гусениц тутового шелкопряда (Филиппович, Минина, 1974), в процессе роста и развития в V возрасте. Ферментативная активность кишечного сока в начале возраста превышала в несколько раз амилолитическую активность ткани кишечника. В дальнейшем разница несколько уменьшилась за счет возрастания активности в ткани кишечника. Увеличение активности амилазы в этом случае связывают с интенсивным накоплением гликогена в средней кишке (Pant, Morris, 1969). Специфическое действие боверина выразилось в ингибировании активности амилазы всех исследованных тканей, наиболее явном в течение первых суток после инфицирования гусениц. Резкое падение активности амилазы гемолимфы, наступившее только при инфицировании боверином, подчеркивает особый характер действия препарата. В отличие от этого хлорофос в пониженной норме вызывает лишь незначительное снижение активности амилазы гемолимфы. Дальнейшее развитие микоза сопровождалось ингибированием амилазы кишечного сока и ткани, тогда как активность амилазы гемолимфы приближалась к норме. Обнаруженный факт глубокого ингибирования амилазы гемолимфы хорошо согласуется с нашими прежними данными о значительном ингибировании боверином через 4—24 часа после инфицирования тканевых протеаз гусениц яблонной плодожорки (Нагорна и др., 1977).

Таким образом, глубокое ингибирование амилазы гемолимфы, кишечного сока и ткани кишечника капустной совки, выявленное в конце первых суток, свидетельствует о нарушении ферментативных реакций углеводного обмена организма в период, предшествующий прорастанию спор гриба. В гистологическом исследовании установлено, что споры гриба боверии прорастают через кутикулу спустя 2—3 дня после инфицирования (Цыбульска, 1972). Естественно предположить, что обнаруженное ингибирование ферментов тканей тела обусловлено интоксикацией, вызванной токсином гриба (Евлахова, Левитин, Меркулова, 1972), присутствовавшим в препарате.

Выводы. Обнаруженное нами глубокое ингибирование амилазы гемолимфы, наряду с частичным ингибированием амилазы сока и ткани кишечника, свидетельствует о нарушении ферментативных реакций углеводного обмена гусениц капустной совки в течение первых суток после инфицирования боверином.

Асатиани В. С. Биохимическая фотометрия.— М. Изд-во АН СССР, 1957.— 836 с.

Евлахова А. А., Левитин М. М., Меркулова М. С. Инсектицидная активность культуральной жидкости природных штаммов и мутантов гриба Beauveria bassiana (Bals.).— В кн. : Патогенные микроорганизмы вредителей растений. Рига : Зинатне, 1972, с. 13—15.

Журавская С. А., Сайфулина А. Х., Юлдашов Т. М., Сабирова Д. У. Исследование действия энтомопатогенных препаратов и их смеси с химическими

на грызущих вредителей хлопчатника.— В кн.: Физиология и токсикология насекомых — вредителей хлопчатника.— Ташкент : Фан, 1970.— 69 с.
Ижевский С. С. Некоторые свойства карбогидраз кишечника колорадского жука.— Биол. науки, 1973, № 9, с. 37.
Лаппа Н. В., Нагорная И. М., Анохина В. П. Влияние боверина и его смеси с пониженными нормами инсектицида на карбогидразы кишечника капустной совки.— В кн.: Патология членистоногих и биологические средства борьбы с вредными организмами. Киев : Изд-во Киев. ун-та, 1974, с. 108—110.
Нагорна І. М., Лаппа Н. В., Гораль В. М., Анохіна В. П. Активність тканевих протеаз яблуневої плодожерки при мікозі.— В кн. Третій Український біохімічний з'їзд, серпень 1977. Донецьк, 1977, с. 234.
Филиппович Ю. Б., Минина Н. И. Амилаза в тканях тутового шелкопряда Bombyx mori.— В кн.: Вопросы экологической физиологии беспозвоночных. М. : Наука, 1974, с. 213—218.
Цибульска А. И. Патологические изменения в организме колорадского жука, вызванные грибом Beauveria bassiana (Bals) Vuill.— В кн.: Патогенные микроорганизмы вредителей растений. Рига : Зинатне, 1972, с. 36—37.
Eguchi M., Iwamoto A. Alkaline proteases in the midgut tissue and digestive fluid of the silkworm Bombyx mori.— Insect Biochem., 1976, 6, p. 491—496.
Pant R., Morris J. Proteolytic and amilolytic activity in Philosamia ricini (Eri silkworm) during development.— Indian J. Biochem., 1969, 6, N 3, p. 156.
Rensuke K. Нихон сансигаку дзасси.— J. Sericult Sci Jap. 1980, 49, N 2, p. 124—132.
Terra W. R., Ferreir C., de Bianchi A. G. Distribution of digestive enzymes among the endo- and ectoperitrophic spaces and midgut cells of Rynchosciara and its physiological significance.— J. Insect Physiol., 1979, 25, N 6, p. 487—494.

Украинский н.-и. институт
защиты растений

Поступила в редакцию
2.IV 1981 г.

УДК 595.787:577.152

Т. Ф. Галанова, Н. М. Деревянко, Р. И. Шведова

ИЗУЧЕНИЕ ГИДРОЛАЗ В ПРОЦЕССЕ МЕТАМОРФОЗА НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА

При изучении экологических особенностей нижнеднепровской популяции непарного шелкопряда выявлено существование внутрипопуляционного полиморфизма по типу окраски гусениц (Колыбин, Зелинская, 1969). В результате исследований установлено также, что тип окраски гусениц является наследуемым признаком (Деревянко, 1980). Причем соотношение «черных» и «серых» гусениц при различной численности популяции закономерно изменяется в зависимости от фазы градации численности. Вероятно, в популяции происходит автоматический отбор особей гетерозиготных или двух форм (гетеро- и гомозиготных) по окраске, отличающихся различными направлениями векторов отбора в разные сезоны года. Следовательно, более глубокое исследование фенотипов непарного шелкопряда по окраске даст возможность изучить те процессы, которые определяют внутрипопуляционную изменчивость и проявляются в структуре популяции, функция которой выражается в динамике ее численности. Поэтому исследование комплекса гидролитических ферментов пищеварения у гусениц непарного шелкопряда явится одним из подходов более глубокого изучения дискретности фенотипов в популяции, поскольку биохимический полиморфизм гидролаз у разных фенотипов насекомого проявляется уже на стадии яйца.

Материал и методы. Объектом исследования служили гусеницы непарного шелкопряда нижнеднепровской популяции I и V возрастов (серый и черный фенотипы по признаку окраски), приуроченные к питанию листьями дуба. В качестве препарата ферментов использовали супернатант, полученный путем центрифугирования на холоде при 6 тыс. об/мин гомогената из 10 гусениц I возраста, а также средней кишки одной гусеницы V возраста в 0,2 мл 0,005 М трис-глицинового буфера pH 8,3.

Ферменты фракционировали в 7,5%-ном полиакриламидном геле методом диск-электрофореза в модификации Филипповича и Щеголевой (1967). На каждую колонку наносили по 250—300 γ белка. Электрофорез проводили при 4 °С в течение 2,5—3 часов. Ферменты выявляли непосредственно на гелевых колонках сразу после окончания электрофореза, используя инкубационные смеси следующих составов. Щелочная фосфатаза (КФ 3.1.3.1): 6,0 мг нафтол-AS-BS-фосфата; 0,2 мл диметилсульфокси-